

Сравнительный анализ морфо-физиологических особенностей проростков *Triticum vulgare* после воздействия наночастиц металлов

Анастасия М. Короткова	^{1,2}	anastasiaporv@mail.ru
Ольга В Кван	^{1,2}	kwan111@yandex.ru
Людмила А. Быкова	¹	artem197812@mail.ru
Ольга С. Кудрявцева	¹	kudrvceva.1997@mail.ru
Татьяна С. Виденева	¹	videneeva.tat@yandex.ru
Александр И. Вишняков	¹	ferupin@mail.ru

¹ Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13

² Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий российской академии наук, г. Оренбург, 9 Января, 29

Реферат. В статье представлен материал, указывающий на нарушение минерального обмена растений в результате вторичного загрязнения тяжелыми металлами, которые при повышенных концентрациях оказывают токсическое действие на самые разнообразные физиологические процессы и занимают одно из центральных мест в проблеме устойчивости растительных организмов к неблагоприятным факторам внешней среды. Значительный интерес привлекают наночастицы на основе железа, меди и никеля. Исследование механизмов адаптации растений к структурно различающимся нанометаллам с позиции изменения ряда физиолого-биохимических параметров актуально для более полного понимания адаптационных возможностей организмов в условиях техногенных наноматериалов. Таким образом, анализ содержания фотосинтетических пигментов позволил сформировать согласованные представления об избирательности влияния нанометаллов на компоненты пигментной системы проростков, зависящей как от состава металла, так и от его концентрации. Полученные результаты экспериментальных исследований служат дополнительным доказательством существования избирательности при активации той или иной реакции антиоксидантной системы растений, определяемой природой наноматериала. Однако, изменение в уровне активных форм кислорода (АФК) в присутствии никеля и меди можно отнести к неспецифической ответной реакции растений, поскольку аналогичные изменения характерны для разнообразных видов стрессов растений и в большинстве случаев требуют дальнейших исследований. В результате проведенных исследований, было получено, что основной «мишенью» действия наночастиц (НЧ) металлов оказалась корневая система растений, что определило интерес к выявлению механизмов фитотоксичности с акцентом на исследование клеточного повреждения именно в этой части растений.

Ключевые слова: тяжелые металлы, наночастицы, индекс толерантности, фотосинтетические пигменты, активные формы кислорода, анализ жизнеспособности клеток

Comparative analysis of morpho-physiological features of *Triticum vulgare* sprouts after exposure to metal nanoparticles

Anastasiya M. Korotkova	^{1,2}	anastasiaporv@mail.ru
Olga V. Kvan	^{1,2}	kwan111@yandex.ru
Lyudmila A. Bykova	¹	artem197812@mail.ru
Olga S. Kudryavtseva	¹	kudrvceva.1997@mail.ru
Tatyana S. Videneeva	¹	videneeva.tat@yandex.ru
Aleksandr I. Vishnyakov	¹	ferupin@mail.ru

¹ Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq., 13

² Federal scientific center of biological systems and technologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, 9 January, 29

Summary. In this article violation of the mineral metabolism of plants as a result of secondary contamination with heavy metals (HM), which at high concentrations have a toxic effect on a wide variety of physiological processes, occupies a central place in the problem of the resistance of plant organisms to unfavorable environmental factors. Nanoparticles based on iron, copper and nickel are of considerable interest. The study of the mechanisms of plant adaptation to structurally different nanometals (NM) from the position of changing a number of physiological and biochemical parameters is relevant for a more complete understanding of the adaptive capabilities of organisms in conditions of technogenic nanomaterials. Analysis of the content of photosynthetic pigments allowed the formation of consistent ideas about the selectivity of the effect of nanometals on the components of the pigment system of seedlings, depending both on the composition of the metal and on its concentration. The obtained results serve as additional evidence of the existence of selectivity in the activation of a particular reaction of the plant's antioxidant system, determined by the nature of the nanomaterial. However, a change in the level of ROS in the presence of Ni⁺ and Cu⁺ can be attributed to the non-specific response of plants, since similar changes are characteristic of a variety of stresses of plants and in most cases require further research. In this aspect the main "target" of the action of LF metals was the root system of plants, which determined the interest in identifying mechanisms of phytotoxicity with an emphasis on the study of cell damage in this part of plants.

Keywords: heavy metals, nanoparticles, tolerance index, photosynthetic pigments, active forms of oxygen, cell viability analysis

Для цитирования

Короткова А.М., Кван О.В., Быкова Л.А., Кудрявцева О.С., Виденева Т.С., Вишняков А.И. Сравнительный анализ морфо-физиологических особенностей проростков *Triticum vulgare* после воздействия наночастиц металлов // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 80. № 3. С. 190–195. doi:10.20914/2310-1202-2018-3-190-195

For citation

Korotkova A.M., Kvan O.V., Bykova L.A., Kudryavtseva O.S., Videneeva T.S., Vishnyakov A.I. Comparative analysis of morpho-physiological features of *Triticum vulgare* sprouts after exposure to metal nanoparticles. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2018. vol. 80. no. 3. pp. 190–195. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2018-3-190-195

Введение

Чрезвычайное разнообразие наночастиц металлов (НЧМ) и других наноматериалов привело к широкому их использованию в промышленности, сельском хозяйстве, биологии и медицине. НЧМ вызывают биологический ответ, отличающийся от действия традиционной ионной формы элементов. Некоторые из них в небольших дозах менее токсичны, чем металлы в ионной форме [1, 2].

В обширном перечне имеющейся литературы в области нанотехнологий существенное место отводится оценке биологических эффектов НЧМ на растения, а именно ростовым показателям и биохимическим показателям [1–5].

В связи с тем, исследование механизмов биологического влияния НЧМ с позиции изменения ряда физиолого-биохимических параметров актуально для более полного понимания адаптационных возможностей растительных организмов к техногенным наноматериалам.

Цель работы – комплексное исследование физиолого-биохимических механизмов устойчивости и/или чувствительности проростков *Triticum vulgare* к наночастицам металлов.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили семена пшеницы мягкой *Triticum vulgare* Vill., соответствующие 1 классу. В качестве материала исследования были выбраны коммерчески доступные нанопорошки Ni⁰ (ООО «Передовые порошковые технологии», г. Томск) и Cu⁰ (ООО «Плазмотерм», г. Москва) диаметром 57±1,15 нм и 54± 2,06 нм, соответственно.

Содержание фотосинтетических пигментов (ФП) определяли в этанольном экстракте из листьев спектрофотометрическим методом по стандартной методике [6] с видоизменениями [1]. Уровень внутриклеточного содержания активных форм кислорода (АФК) устанавливали по интенсивности флуоресценции 0,25 мкМ 2,7-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (DCFH-DA), в качестве положительного контроля использовали 35 мкМ H₂O₂ [5, 7]. Определение гидроксильного радикала HO проводили по флуоресценции 7-гидроксикумарин-3-карбоновой кислоты (7-OH-KKK) [9], положительным контролем служил реактив Фентона – 50 мкМ CuSO₄ и 25 мМ H₂O₂ [1]. Генерацию супероксид-анион радикала O₂⁻ в корнях проростков определяли по окислению адреналина при 347 нм, при этом положительным контролем была система генерации O₂⁻ – 0,05 мМ рибофлавин (РФ) и 1 мМ тетраметилэтилендиамин (ТЕМЕД) [1, 8].

Результаты и обсуждение

Интегральная оценка результатов тестирования ИТ по энергии прорастания (Е) и морфо-метрическим характеристикам проростков *T. vulgare* после 48 часов воздействия НЧ металлов позволила зафиксировать низкую устойчивость растений к Cu⁰ и Ni⁰. Подсчет энергии прорастания (Е) показал достоверное снижение (P < 0,05) показателя при внесении в среду проращивания НЧ Cu⁰ и Ni⁰. При этом, наиболее выраженное влияние на процент прорастания было отмечено для НЧ Cu⁰: в присутствии металла происходило резкое, на порядок большее (по сравнению с контролем) угнетение пророста семян (в 44 раза), вплоть до полного его подавления при концентрациях 0,5 и 1 М. Вместе с тем, в присутствии НЧ Ni⁰ в разведениях от 0,1 до 1 М значение Е было ниже контроля в 16,7 раза, соответственно (P < 0,05).

Развернутый анализ метрических показателей проростков *T. vulgare* после 48 часов воздействия НЧ металлов и их оксидов показал, что применение НЧ Cu⁰ и Ni⁰ способствовало уменьшению роста проростков, которое усиливалось с возрастанием концентрации металла в среде культивирования. Особенно это отчетливо видно на примере с НЧ Cu⁰, заметно подавляющих рост первого листа до 11 раз, а корня – до 19 раз по отношению к контролю (P ≤ 0,05). В то же время, НЧ Ni⁰ уменьшали рост корня до 7,4 раз по сравнению с контролем, а рост первого листа – до 5,3 раз, соответственно (P < 0,05).

Нами также установлено, что Cu⁰ и Ni⁰ влияли даже на устойчивый к действию большинства металлов процесс заложения латеральных корней [1]. Так, Ni⁰ снижал количество боковых корней до 3,4±1,02 шт. (против 4,6± 0,11 шт. в контроле), Cu⁰ – увеличивала до 6,8± 0,17 шт. Снижение адвентивных корней, вероятно, является общим проявлением специфической реакции растений к металлам [10]. Интересно отметить, что растения, выращенные в присутствии Ni⁰ и Cu⁰, характеризовались развитием более компактной корневой системой по сравнению с интактными образцами. Причем в вариантах с Cu⁰ наблюдалось ветвление по типу «гусиной лапки» и образование растений-«карликов». Похожие результаты по влиянию на ростовые и морфологические параметры корней показаны как на ионных, так и наноформах меди [11].

Итак, на основе ростовых характеристик *T. vulgare* мы рассчитали ИТ, который в целом был меньше для корневой системы, чем для листьев. Это представляется вполне закономерным, поскольку корень является первичной «мишенью» действия многих металлов (таблица 1).

Соотношение фотосинтетических пигментов в листьях проростков *T. vulgare* после 48-часового воздействия НЧ металлов

Table 1.

The ratio of photosynthetic pigments in the leaves of sprouts *T. vulgare* after 48-Hourly impact of the LF metals

Концентрация НЧ металлов, М (Concentration NP, M)		Хл. a/b (Chl. a/b)	Хл/Кар (Chl/Car)	Концентрация НЧ металлов, М (Concentration NP, M)		Хл. a/b (Chl. a/b)	Хл/Кар (Chl/Car)
Контроль (Control)		2,68	7,83	Контроль (Control)		2,68	7,83
Cu°	0,0125	2,27*	5,05	Ni°	0,0125	2,68	7,88
	0,025	2,03*	4,85		0,025	2,85*	7,27*
	0,05	2,03*	6,33*		0,05	3,57*	6,73*
	0,1	2,22*	6,23		0,1	3,74*	6,65*
	0,5	–	–		0,5	3,51	7,02*
	1	–	–		1	3,97*	6,43*

Примечание: * – вариант достоверно отличающийся от контроля (значение $P \leq 0,05$)

Note: * – The variant is reliably different from the control (value $p \leq 0.05$)

Анализ содержания фотосинтетических пигментов (ФП) позволил сформировать согласованные представления об избирательности влияния нанометаллов на компоненты пигментной системы проростков, зависящей как от состава металла, так и от его концентрации. На фоне воздействия Cu° и Ni° отмечалось снижение пула хлорофиллов на 19% и 18,5% соответственно. Детализация подобного ингибирующего эффекта продемонстрировала видоспецифичное влияние указанных металлов на отдельные формы хлорофилла. Так, Cu° способствовала уменьшению Хл a (на 22–33% относительно контроля), а Ni° в концентрациях более 0,05 М снижал содержание Хл b (на 45,5–81,8%) ($P > 0,05$).

Исследование про-/антиоксидантного статуса проростков *Triticum vulgare* после воздействия наночастиц металлов

Изменение роста корней пшеницы после внесения Cu° и Ni° определило интерес к более точному анализу прооксидантных эффектов последних. Так, флуориметрическое измерение DCFH-DA позволило констатировать достоверное ($P < 0,05$) прямопропорциональное увеличение общей суммы АФК в корнях по сравнению с отрицательным контролем после воздействия Cu° (до 35,8%). В целом, уровень АФК опытных образцов был на 39% ниже относительно положительного контроля (35 мкМ H₂O₂). Полученные результаты согласуются с микроскопией апекса корней проростков, согласно которой наиболее выраженная флуоресценция регистрировалась после воздействия Cu° в зоне корневого чехлика (рисунок 1).

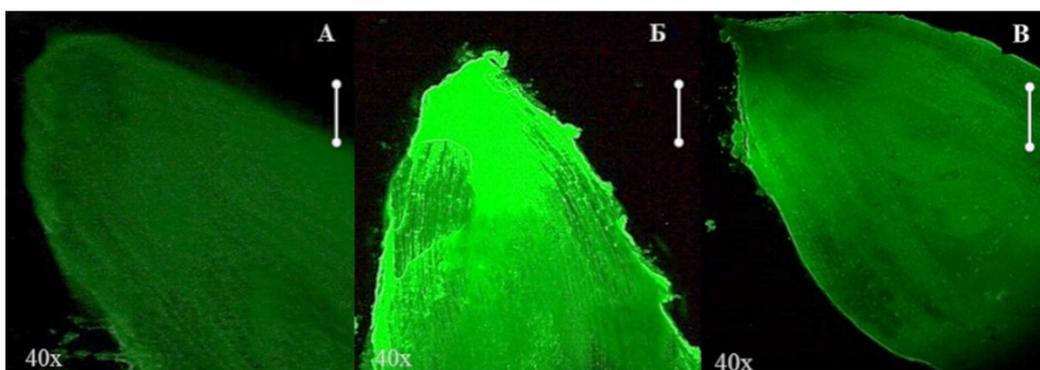


Рисунок 1. Флуоресценция DCF на расстоянии 0,5 см от апекса в отрицательном контроле (А) и после воздействия 0,1 М Cu° (Б) и Ni° (В), увеличение 40х (бар 50 мкм)

Figure 1. Fluorescence DCF at a distance of 0.5 cm from apex in negative control (a) and after exposure 0.1 m CU° and Ni° (b), increase 40s (bar 50 microns)

Влияние НЧ металлов на выработку радикалов HO· в корневой части *T. vulgare* заключалось в увеличении интенсивности флуоресцентного сигнала 7-ОН-ККК. Так, наиболее выраженное статистически значимое по сравнению с контролем

($P < 0,05$) накопление количества HO зафиксировано при воздействии Cu° в дозе 0,05 и 0,1 М (до 8,5 и 13,6%). Несмотря на это, уровень радикалов был ниже, чем после обработки растений реактивом Фентона (на 8,7–12%). В тоже время,

наличие в среде Ni° в существенной мере не влияло на образование $\text{HO}\cdot$ радикалов (менее 3%).

Кроме того, обнаружено, что скорость образования O_2^- прогрессивно нарастала после экспозиции с Ni° (от 52 до 68% относительно отрицательного контроля). На этом фоне Cu° увеличивали выработку O_2^\bullet – в меньшей степени (до 12,5%) ($P < 0,05$), что согласуется с динамикой выработки данного радикала, показанной на примере *Arabidopsis thaliana* [11]. Стоит отметить то, что величина определяемого показателя была более чем в 2 раза ниже, чем у растений, выросших в системе генерации O_2^- .

В ходе исследования нами также установлен интенсивный флуоресцентный сигнал 7-ОН-ККК радикалов $\text{HO}\cdot$ после проращивания *T. vulgare* с наномедью. Наиболее выраженное статистически значимое ($P < 0,05$) накопление количества $\text{HO}\cdot$ в корневой части растений по сравнению с контролем наблюдалось при

воздействии НЧ Cu° в дозе 0,05 и 0,1 М – на 8,5 и 13,6% соответственно. Несмотря на это, уровень радикалов был ниже, чем после обработки растений реактивом Фентона (на 8,7–12%). Наличие в среде CuO и Ni° в существенной мере не влияло на образование $\text{HO}\cdot$ радикалов (накопление менее 3%).

Результаты также показали, что скорость образования O_2^- – прямопропорционально увеличивается после экспозиции *T. vulgare* с Ni° на 52–68% выше отрицательного контроля (рисунок 2). В тоже время, Cu° увеличивала выработку O_2^- в меньшей степени (на 12,5%). Стоит отметить то, что величина определяемого показателя была более чем в 2 раза ниже, чем у растений, выросших в среде системы генерации O_2^- . В недавней работе [11] также обнаружено увеличение O_2^- и H_2O_2 после воздействия наномеди на примере *Arabidopsis thaliana*.

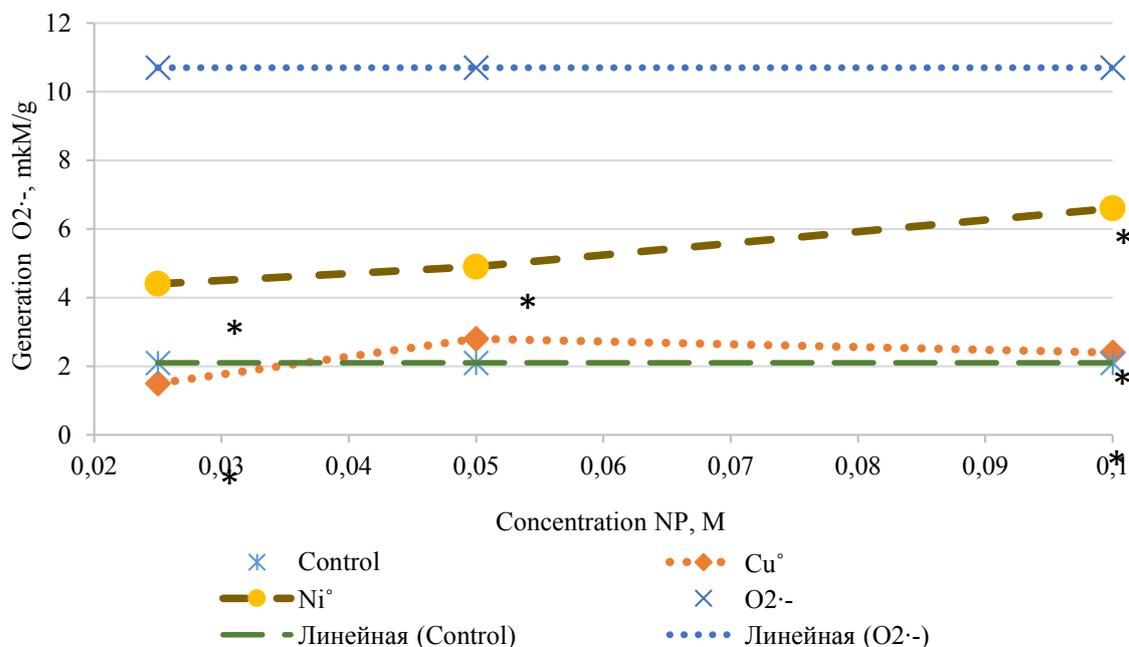


Рисунок 2. Скорость генерации супероксид-аниона O_2^- – по аутоокислению адреналина в экстракте из корней проростков *T. vulgare* после 48-часового воздействия НЧ Cu° и Ni° ; * $P \leq 0,05$

Figure 2. Speed of generation of superoxide-anion about O_2^- – on auto-oxidation of adrenaline in extract from roots of sprouts *T. vulgare* after 48-Hourly exposure to Cu° and Ni° ; * $P \leq 0,05$

Таким образом, модельное растение *T. vulgare* обладает видоспецифичной чувствительностью к изменениям содержания Cu° и Ni° в наноформе: Ni° стимулирует выработку O_2^- , а Cu° – общий пул АФК, включающий H_2O_2 и $\text{HO}\cdot$.

Полученные результаты служат дополнительным доказательством существования избирательности при активации той или иной реакции антиоксидантной системы растений, определяемой природой наноматериала. Однако, изменение в уровне АФК в присутствии Ni° и Cu° можно

отнести к неспецифической ответной реакции растений, поскольку аналогичные изменения характерны для разнообразных видов стрессов растений и в большинстве случаев требуют дальнейших исследований. В этом аспекте основной «мишенью» действия НЧ металлов оказалась корневая система растений, что определило интерес к выявлению механизмов фитотоксичности с акцентом на исследование клеточного повреждения именно в этой части растений.

Выводы

1. Обнаружено уменьшение устойчивости проростков *T. vulgare* после воздействия меди и никеля в наноформе, что проявляется снижением энергии прорастания семян и ростовых показателей.

2. Зарегистрировано специфичное снижение общего содержания хлорофилла *a* (медь) и хлорофилла *b* (Ni°) в листьях, что свидетельствует об избирательности ответной реакции

ЛИТЕРАТУРА

1 Короткова А.М. Влияние наночастиц металлов и их оксидов на физиолого-биохимические показатели растения *Triticum vulgare* Vill. Уфа: Башкирский государственный университет, 2017. 194 с.

2 Khana I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities // *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. URL: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.

3 Дерябина Т.Д. Адаптивные реакции и пределы толерантности *Triticum aestivum* и *Allium cepa* L. к наночастицам меди и железа. Оренбург, 2015. 23 с.

4 Masarovicova E., Kralova K. Metal nanoparticles and plants // *Ecol. Chem. Eng.* 2013. № 20(1). P. 9–22.

5 Faisal M., Saquib Q., Alatara A. A., Al-Khedhairi A.A. Phytotoxic hazards of NiO-nanoparticles in tomato: a study on mechanism of cell death // *J. of Hazardous Materials*. 2013. № 250–251. P. 318–332.

6 Корнилина В.В. Влияние ложного осинового трутовика на содержание пигментов в листьях осины в лесах Ульяновской области // *Фундаментальные исследования*. 2012. Т. 3. № 9. С. 568–572.

7 Dimkpa C.O., McLean J.E., Latta D.E., Manango E. et al. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat // *J. Nanopart. Res.* 2012. № 814(9). P. 1125–1129.

8 Higuchi Y. Glutathione depletion-induced chromosomal DNA fragmentation associated with apoptosis and necrosis // *J. Cell. Mol. Med.* 2004. № 8. P. 455–464.

9 Gerald L.N., Jamie R.M. Fluorescence detection of hydroxyl radicals // *Radiat. Phys. Chem.* 2006. № 75. P. 473–478.

10 Wilkins D.A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // *New Phytologist*. 1978. № 80. P. 623–633.

11 Nair P.M., Chung I.M. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2014. № 21. P. 12709–127022.

пигментной системы проростков в ответ на действие металлов.

Установлено избирательное накопление перекиси водорода и гидроксильных радикалов в корнях проростков под действием H_2O_2 и гидроксильных радикалов– после обработки растений Ni° .

Благодарности

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-316-00116.

REFERENCES

1 Korotkova A.M. Vliianie nanochastits metallov i ikh oksidov na fiziologo-biokhimicheskie pokazateli rasteniia *Triticum vulgare* Vill [Influence of nanoparticles of metals and their oxides on the physiological and biochemical parameters of the plant *Triticum vulgare* Vill] Ufa, Bashkir State University, 2017. 194 p. (in Russian)

2 Khana I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.

3 Deryabina T.D. Adaptivnye reaktsii i predely tolerantnosti *Triticum aestivum* i *Allium cepa* L k nanochastitsam medi i zheleza [Adaptive reactions and tolerance limits of *Triticum aestivum* and *Allium cepa* L. to copper and iron nanoparticles] Orenburg, 2015, 23 p. (in Russian)

4 Masarovicova E., Kralova K. Metal nanoparticles and plants. *Ecol. Chem. Eng.* 2013. no. 20(1). pp. 9–22.

5 Faisal M., Saquib Q., Alatara A. A., Al-Khedhairi A.A. Phytotoxic hazards of NiO-nanoparticles in tomato: a study on mechanism of cell death. *J. of Hazardous Materials*. 2013. no. 250–251. pp. 318–332.

6 Kornilina V.V. The influence of false aspen tinder on the pigment content in aspen leaves in the forests of the Ulyanovsk region. *Fundamentalnye issledovaniia* [Basic research] 2012. vol. 3. no. 9. pp. 568–572. (in Russian)

7 Dimkpa C.O., McLean J.E., Latta D.E., Manango E. et al. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat, *J. Nanopart. Res.* 2012. no. 814(9). pp. 1125–1129.

8 Higuchi Y. Glutathione depletion-induced chromosomal DNA fragmentation associated with apoptosis and necrosis. *J. Cell. Mol. Med.* 2004. no. 8. pp. 455–464.

9 Gerald L.N., Jamie R.M. Fluorescence detection of hydroxyl radicals. *Radiat. Phys. Chem.* 2006. no. 75. pp. 473–478.

10 Wilkins D.A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytologist*. 1978. no. 80. pp. 623–633.

11 Nair P.M., Chung I.M. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2014. no. 21. pp. 12709–127022.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Анастасия М. Короткова к.б.н., экспериментально-биологическая клиника (виварий), н.с. лаборатории минерального питания Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий российской академии наук, г. Оренбург, 9 Января, 29, anastasiaporv@mail.ru

Ольга В Кван научный сотрудник, институт биоэлементологии, Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13, kwan111@yandex.ru

Людмила А. Быкова к.т.н., кафедра безопасности жизнедеятельности, Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13, artem197812@mail.ru

Ольга С. Кудрявцева студент, кафедра биохимии и микробиологии, Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13, kudrvceva.1997@mail.ru

Татьяна С. Виденева студент, кафедра биохимии и микробиологии, Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы, 13, videneeva.tat@yandex.ru

Александр И. Вишняков д.б.н., Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, пр. Победы 13, ferupin@mail.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 15.05.2018

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 20.07.2018

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Anastasiya M. Korotkova Cand. Sci. (Biol.), Experimental-Biological Clinic (Vivarium), Federal Scientific Center of Biological systems and agro-technologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, 9 January, 29, anastasiaporv@mail.ru

Olga V. Kvan researcher, Institute Bioelementology, Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq., 13, kwan111@yandex.ru

Lyudmila A. Bykova Cand. Sci. (Engin.), Life Safety department, Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq., 13, artem197812@mail.ru

Olga S. Kudryavtseva student, Biochemistry and Microbiology department, Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq., 13, kudrvceva.1997@mail.ru

Tatiana S. Videneeva student, Biochemistry and Microbiology department, Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq., 13, videneeva.tat@yandex.ru

Aleksandr I. Vishnyakov Dr. Sci. (Biol.), Orenburg state university, Orenburg, Pobedy sq, 13, ferupin@mail.ru

CONTRIBUTION

All authors equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 5.15.2018

ACCEPTED 7.20.2018